

# Typering en transmissie van parodontale bacteriën

T.J.M. van Steenberg,  
microbioloog<sup>1</sup>  
B.G. Loos, tandarts<sup>2</sup>  
U. van der Velden, tandarts<sup>2</sup>

**Samenvatting.** Typering van bacteriën houdt in dat onderscheid gemaakt wordt tussen individuele stammen binnen een soort. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van typeringsmethoden voor bacteriën die geassocieerd worden met parodontitis. In het bijzonder wordt aandacht geschonken aan nieuwe moleculair biologische technieken, gebaseerd op karakterisatie van eiwitten en DNA. Met deze technieken is aangetoond dat *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en *Porphyromonas gingivalis*, bacteriën die vaak in hoge aantallen voorkomen bij parodontitis, een heterogene populatiestructuur hebben die overeenkomt met de structuur van bacteriën die opportunistische infecties veroorzaken. Verder worden deze typeringstechnieken toegepast om de transmissieroutes van deze bacteriën te bestuderen. *P. gingivalis* blijkt tussen echtgenoten overgedragen te worden, maar overdracht van ouder op kind lijkt vrijwel niet voor te komen. Voor *A. actinomycetemcomitans* is overdracht tussen volwassenen onwaarschijnlijk en lijkt overdracht van ouder op kind in lage frequentie mogelijk. De betekenis van deze bevindingen wordt bediscussieerd.

Uit <sup>1</sup>de vakgroep Orale Microbiologie en <sup>2</sup>de vakgroep Parodontologie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam (ACTA).

Trefwoorden: Parodontologie – Bacteriën – Typering

Datum van acceptatie: 30 december 1995.

Adres: Dr. T.J.M. van Steenberg,  
Orale Microbiologie,  
van der Boechorststraat 7,  
1081 BT Amsterdam.

STEENBERGEN TJM VAN, LOOS BG, VELDEN U VAN DER. Typering en transmissie van parodontale bacteriën. Ned Tijdschr Tandheelkd 1996; 103: 127-31.

## 1 Inleiding

Bepaalde bacteriën, zoals *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en *Porphyromonas gingivalis*, komen vaak in hoge aantallen voor bij parodontale ontstekingen.<sup>1,2</sup> Ondanks het feit dat er de laatste decennia grote vooruitgang is geboekt op het gebied van de microbiële aspecten van parodontale infecties, zijn nog steeds vele belangrijke vragen niet beantwoord. Een belangrijke vraag is bijvoorbeeld of, wanneer mensen gekoloniseerd worden met parodontale bacteriën zoals *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis*, dit ook automatisch leidt tot infectie, dat wil zeggen ontsteking en parodontale afbraak. Ook is het belangrijk te weten hoe lang de kolonisatie met één van de parodontale bacteriën duurt, met andere woorden: hoe stabiel of dynamisch is de kolonisatie.

Een andere belangrijke vraag is of er binnen een bepaalde species verschillende subgroepen te onderscheiden zijn die verschillende pathogene eigenschappen hebben. Met andere woorden, hoe is de natuurlijke populatie gestructureerd. Verschillen binnen een soort zouden kunnen verklaren waarom sommige mensen, die met *A. actinomycetemcomitans* of *P. gingivalis* gekoloniseerd zijn, geen parodontale problemen vertonen en anderen juist wel. Verder is het noodzakelijk te weten hoe individuele stammen van een soort verdeeld zijn over een continent of de wereld. Zijn er bepaalde stammen geassocieerd met parodontale ziekte in specifieke geografische gebieden (endemische stammen) en bestaat de mogelijkheid dat overdracht plaatsvindt tussen mensen en (huis)dieren?

Voorname vragen kunnen alleen beantwoord worden als er gevoelige methoden voorhanden zijn om individuele stammen binnen de verschillende soorten uit elkaar te houden, ofwel te typeren. Typering van bacteriën houdt in dat er binnen een soort onderscheid wordt gemaakt tussen verschillende stammen. Er wordt dus bestudeerd of bacteriën die van verschillende plaatsen geïsoleerd worden, hetzelfde zijn of dat ze verschillen.

## 2 Typeringsmethoden

Bij het beoordelen van de verschillende typeringsmethoden moet rekening worden gehouden met verschillende aspecten.<sup>3</sup> Wanneer de overdracht van bacteriën bestudeerd moet wor-

den of wanneer bekeken moet worden met hoeveel verschillende typen van een bepaalde species iemand gekoloniseerd is, dan is een gevoelige methode nodig waarbij elke verschillende 'kloon' onderscheiden kan worden. Hierbij wordt dan geprobeerd een soort 'vingerafdruk' van een bacterie te maken. Wanneer daarentegen onderzocht wordt of bepaalde typen of een subgroep van stammen van een species geassocieerd zijn met ziekte, dus wanneer inzicht in de natuurlijke populatiestructuur gewenst is, dan is het niet alleen nodig bepaalde typen of subgroepen van elkaar te onderscheiden, maar is het ook noodzakelijk ieder type genetisch aan elkaar te relateren.

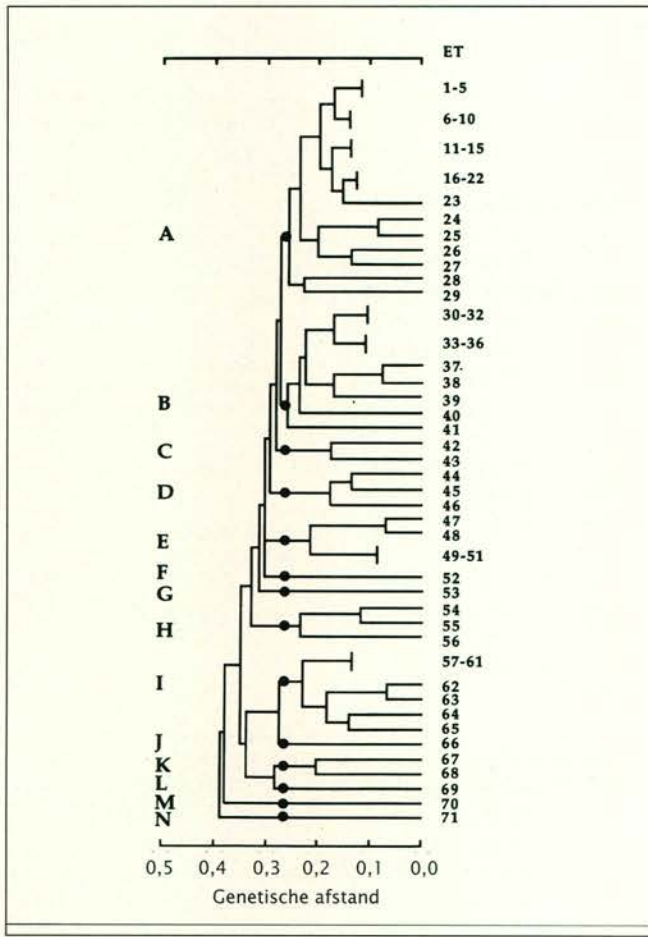
### 2.1 Klassieke typeringsmethoden

Er zijn voor bacteriën die voorkomen bij parodontale ontstekingen, diverse klassieke (fenotypische) typeringsmethoden mogelijk.<sup>3-5</sup> Dit zijn onder andere biotypering (op basis van fysiologische eigenschappen), serotypering (op basis van antigenen eigenschappen), eiwitamenstelling (elektroforese van membraaneiwitten) en antibiotigramtypering (op basis van antibioticumgevoeligheidsbepalingen). Voor *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* blijken deze technieken een beperkte waarde te hebben voor epidemiologisch onderzoek. Dit komt omdat deze technieken weinig onderscheid kunnen maken tussen verschillende isolaten.<sup>3-5</sup> Daarom wordt de voorkeur gegeven aan andere methoden om individuele stammen te karakteriseren.

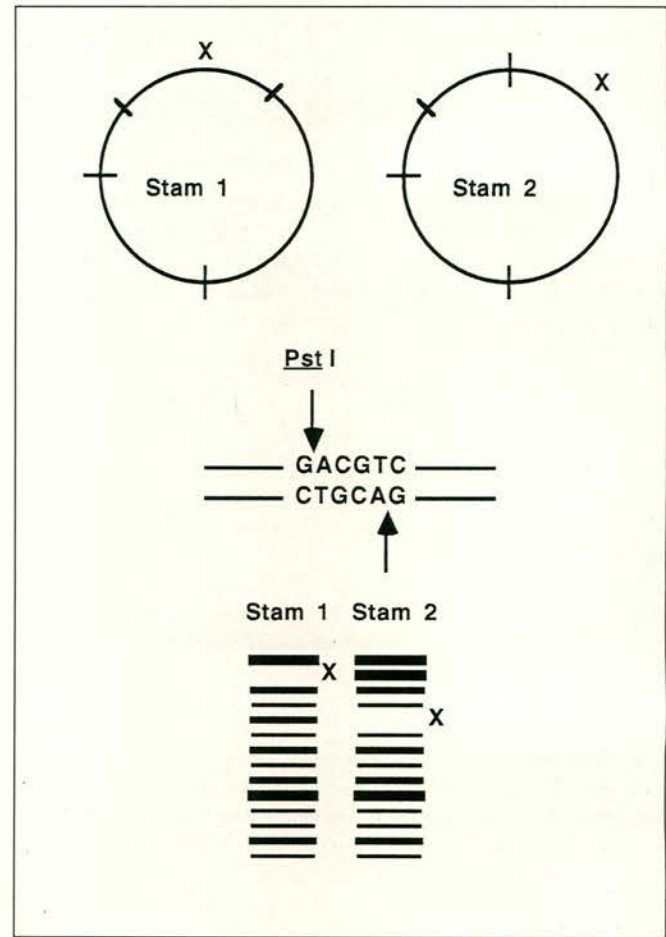
### 2.2 Multilocus-enzym-elektroforese

Multilocus-enzym-elektroforese (MLEE) is een gecompliceerde maar informatieve manier om individuele isolaten te onderscheiden en genetisch aan elkaar te relateren.<sup>6</sup> Bij deze methode wordt gebruik gemaakt van een serie essentiële intracellulaire metabole enzymen. Tussen bacteriën van één soort bestaan kleine variaties in het DNA dat voor een bepaald enzym codeert. Dit levert kleine variaties op in de aminozuurvolgorde met als gevolg een verschil in elektrolading. De verschillen in lading kunnen worden aangetoond met behulp van elektroforese. De combinatie van elektroforetische migraties





1



2

Afb. 1. Overzicht van de genetische verwantschap van 92 stammen van *P. gingivalis* op basis van multilocus-enzym-elektroforese (MLEE). In dit dendrogram zijn stammen van *P. gingivalis* aangegeven die voor het merendeel afkomstig zijn van parodontitis en geïnfecteerde wortelkanalen.

Bij MLEE worden individuele isolaten onderscheiden d.m.v. elektroforetische migraties van een serie intracellulaire metabole enzymen; de combinatie van migraties levert een 'elektroforetisch type' (ET) op. Daarna kan een stamboom in de vorm van een dendrogram van alle typen gecreëerd worden. Het dendrogram is een schematische samenvatting en weergave van de genetische relaties voor 71 ET's. De 71 ET's vertegenwoordigen 92 afzonderlijke isolaten van *P. gingivalis*. Groepen van 3 of meer ET's die slechts op een genetische afstand van 0,12 of minder van elkaar divergeren, werden afgekort (groepen ET 1-5, 6-10, 11-15, 16-22, 30-32, 33-36, 49-51, 57-61). Op een genetische afstand van ongeveer 0,28 zijn er 14 clusters of genetische lijnen te identificeren; deze zijn met hoofdletters (A-N) aangegeven (een cluster bevat meerdere ET's; een genetische lijn vertegenwoordigt één ET). Isolaten gekweekt uit subgingivale plaque van patiënten met adulte parodontitis, behoorden tot 63 ET's. Deze ET's komen voor in alle clusters of genetische lijnen, behalve F en G. Dit is een aanwijzing dat isolaten afkomstig uit parodontale laesies genetisch van elkaar verschillen met een maximale genetische afstand van 0,4 tot elkaar. Dus er zijn niet één of slechts enkele genetische clusters waarin alle stammen van *P. gingivalis* geassocieerd met parodontitis zich bevinden. Deze resultaten maken het aannemelijk dat *P. gingivalis* een opportunistische rol speelt in parodontale infecties. Dit geldt ook voor de *P. gingivalis*-stammen die geïsoleerd zijn uit necrotische wortelkanalen.

Afb. 2. Het principe van DNA-fingerprinting (ook wel genoemd REA = restrictie endonuclease analysis). DNA van verschillende bacteriestammen van dezelfde species (bijv. *P. gingivalis*) wordt geïsoleerd. Vervolgens wordt het DNA van iedere stam geknipt met een restrictie-enzym, bijv. *Pst*I. Dit enzym herkent een specifieke volgorde van baseparen (de bouwstenen van het DNA). Elke keer dat het enzym op het DNA de volgorde GACGTC tegenkomt, wordt het DNA geknipt (zie linksonder). De geknipte fragmenten kunnen op een agarosegel gescheiden worden; de kleinste fragmenten onderaan de gel, de grootste bovenin. In de afbeelding zijn schematisch 2 stammen weergegeven met een aantal herkenningsplaatsen voor het restrictie-enzym. Stam 1 mist een plaats (X) die stam 2 wel heeft. Andersom mist stam 2 een herkenningsplaats voor het enzym die stam 1 wel heeft. Als de geknipte DNA-fragmenten van beide stammen op een gel met elkaar vergeleken worden, kan men verschillen zien in het restrictiepatroon (de DNA-fingerprint).

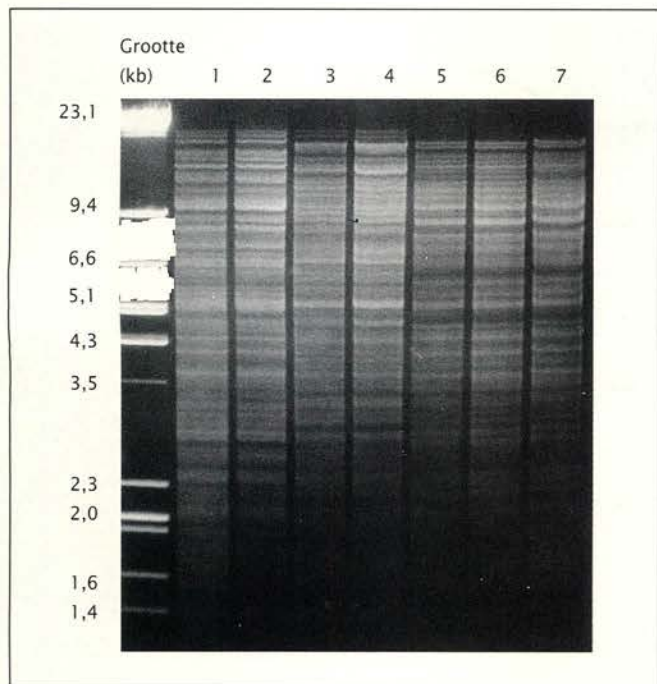
van een serie enzymen levert een 'elektroforetisch type' op. Bovendien kan een stamboom van alle typen gecreëerd worden. Een voorbeeld is te zien in afbeelding 1. Dit dendrogram is een schematische weergave van de genetische relaties van 92 isolaten van *P. gingivalis*.<sup>7</sup> Er werden veertien clusters geïdentificeerd (aangegeven met A-N). Isolaten uit subgingivale plaque van patiënten met adulte parodontitis zijn in bijna al deze clusters te vinden. Dit wil zeggen dat er niet één bepaald cluster is dat geassocieerd is met parodontitis. Net als bij *P. gingivalis* is het nu ook voor *A. actinomycetemcomitans* bekend dat er grote genetische diversiteit bestaat in de natuurlijke popu-

latie.<sup>8</sup> Tot op heden vormt het onderzoek naar de structuur van de natuurlijke populatie met behulp van MLEE de gouden standaard voor andere typeringen.<sup>6</sup>

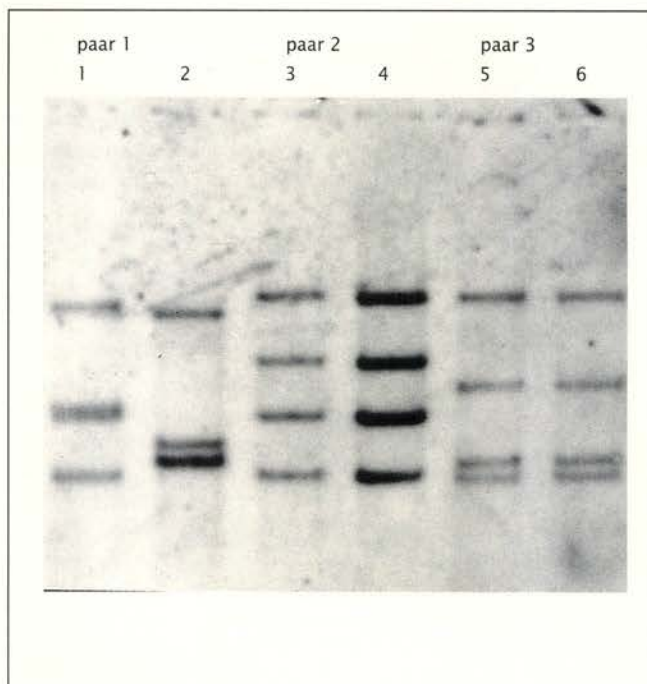
### 2.3 Restrictie-enzym-analyse (DNA-fingerprinting)

Met behulp van restrictie-enzym-analyse (DNA-fingerprinting) kan een soort vingerafdruk van het DNA van een bacterie gemaakt worden. Hierbij wordt eerst DNA van verschillende bacteriën van dezelfde soort geïsoleerd. Vervol-



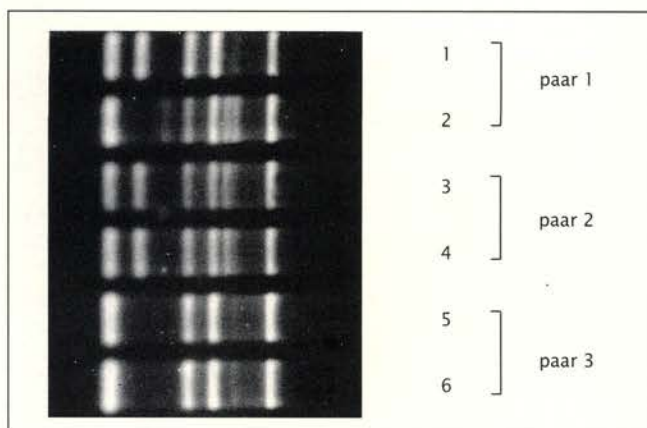


Afb. 3. DNA-restrictie-enzym-analyse van *P. gingivalis*-stammen. Laan 1 en 2 bevatten stammen waarin geen verschil te onderscheiden is, net zoals de lanen 3 en 4 en 5, 6 en 7. Onderling vertonen de 3 sets wel verschillen.



Afb. 4. Ribotypering van 6 isolaten van *P. gingivalis* van 3 echtparen. Bij paar 1 zijn de patronen duidelijk verschillend, terwijl ze bij de paren 2 en 3 aan elkaar gelijk zijn. Onafhankelijke isolaten zijn verschillend.

Afb. 5. AP-PCR-typering van 6 isolaten van *P. gingivalis* van 3 echtparen. Bij paar 1 zijn de patronen duidelijk verschillend, terwijl ze bij de paren 2 en 3 aan elkaar gelijk zijn. Onafhankelijke isolaten zijn verschillend.



5

gens wordt met een restrictie-enzym het DNA van iedere bacterie specifiek in brokstukken geknipt, waarna deze DNA-fragmenten van elkaar worden gescheiden met behulp van elektroforese. Hierdoor ontstaat een karakteristiek bandenpatroon. De verschillen en overeenkomsten die men dan kan zien, tonen aan in hoeverre stammen genetisch van elkaar verschillen. De techniek is schematisch weergegeven in afbeelding 2.

Ook met deze techniek is heterogeniteit van *A. actinomycescomitans*- en *P. gingivalis*-stammen vast komen te staan.<sup>5-9</sup> Deze techniek blijkt geschikt te zijn om individuele stammen van *A. actinomycescomitans* of *P. gingivalis* van elkaar te onderscheiden. Een belangrijk nadeel is echter dat de patronen uit vele banden bestaan die niet altijd goed te beoordelen zijn (afb. 3).

## 2.4 Ribotypering en RFLP

Ribotypering is een afgeleide van restrictie-enzym-analyse. Hierbij wordt eerst, zoals hierboven beschreven, het DNA geknipt met een restrictie-enzym en de fragmenten gescheiden met elektroforese; daarna wordt het DNA-bandenpatroon integraal overgebracht op een filter waarop specifieke fragmenten kunnen worden aangetoond. Een complementair

stukje 'gelabeld' DNA (ribosomaal DNA dat codeert voor het ribosomaal RNA) fungeert als 'probe'. Dit gelabelde DNA wordt aan het ribosomaal DNA van de te typeren bacterie gebonden (hybridisatie). Hierdoor worden slechts enkele fragmenten zichtbaar, waardoor een eenvoudiger te interpreteren patroon ontstaat (afb. 4).<sup>5-10</sup>

In plaats van ribosomaal DNA kunnen ook andere DNA-fragmenten als probe worden gebruikt. In dat geval wordt de typeringstechniek 'de bepaling van restriction fragment length polymorphism' (RFLP) genoemd. RFLP-analyse is vooral een geschikte methode om kleine verschillen in verwante stukken bacterieel chromosoom te ontdekken.<sup>11</sup> Deze techniek is vooral geschikt voor onderzoek naar variaties in individuele genen, maar is ook gebruikt voor epidemiologisch onderzoek om bepaalde stammen te vervolgen en transmissie aan te tonen.<sup>3</sup>

## 2.5 Arbitrary primed PCR

Een andere typeringsmethode voor onderscheid tussen bacteriestammen van dezelfde soort, ook gebaseerd op moleculair biologische technieken, is de zogenaamde 'arbitrary primed polymerase chain reaction' (AP-PCR). Deze methode houdt in dat specifieke DNA-fragmenten *in vitro* met een DNA-polymerase-enzym vermeerderd worden. De verschillende



geamplificeerde fragmenten worden vervolgens gescheiden en aangetoond door middel van elektroforese. Het relatief eenvoudige bandenpatroon (afb. 5) kan dan fungeren als vingerafdruk. De toepassingen zijn gelijk aan die van de hierboven beschreven methoden. Een groot voordeel van deze methode is de snelheid en eenvoud ervan. De conclusies die met deze techniek verkregen worden, zijn vergelijkbaar met die van restrictie-enzym-analyse.<sup>10</sup>

## 2.6 Restrictie-fragment-eindlabeling

Een recent ontwikkelde moleculair biologische typeringsmethode is de 'restriction fragment end labeling' (RFEL).<sup>12</sup> Dit is een modificatie op de restrictie-enzym-analyse, waarbij, door gebruik te maken van radioactieve labelling en gevoelige elektroforesetechnieken, een zeer grote gevoeligheid en nauwkeurigheid bereikt kunnen worden om een bandenpatroon (vingerafdruk) te verkrijgen. Voor *A. actinomycetemcomitans* blijkt deze methode niet alleen gevoeliger dan andere typeringsmethoden om verschillende stammen te onderscheiden, maar ook geschikt om relatief eenvoudig een populatiestructuur mee te beschrijven;<sup>12</sup> de RFEL-typen kunnen namelijk genetisch aan elkaar gerelateerd worden.

## 3 Conclusie ten aanzien van typeringsmethoden

Voor de meeste doeleinden om individuele isolaten van *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis* te typeren kan gebruik worden gemaakt van genotypering via ribotypering of AP-PCR. MLEE is vooral bruikbaar als het gaat om vragen betreffende de genetische structuur van de natuurlijke populatie en de onderlinge genetische verwantschap van stammen. Voor het snel typeren van honderden isolaten voor grootschalig epidemiologisch onderzoek naar kolonisatie en transmissie, is het gebruik van ribotypering, AP-PCR of RFEL aan te raden.

## 4 Toepassingen van typeringsmethoden in de parodontologie

### 4.1 Structuur van de natuurlijke populaties

Voor zowel *P. gingivalis* als *A. actinomycetemcomitans* is het duidelijk dat er binnen deze species veel heterogeniteit bestaat.<sup>3,7-12</sup> Zowel met MLEE als met DNA-technieken blijken onafhankelijke isolaten in het algemeen van een verschillend type te zijn. Extrapolatie vanuit de structuur van de natuurlijke populaties van zowel *A. actinomycetemcomitans* als *P. gingivalis* indiceert dat er voor deze species relatief veel klonen bestaan (schattingen 10.000 – 100.000). Vele, zo niet alle klonen van *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* kunnen geassocieerd zijn met parodontitis. De heterogene structuur van de natuurlijke populaties van *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* is vergelijkbaar met die van andere opportunistische bacteriën, zoals *Escherichia coli* en *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>3,6-8</sup> Deze bacteriën kunnen opportunistische infecties veroorzaken. Dit zijn infecties waarbij de afweer van de gastheer op de een of andere wijze gestoord is, waardoor de bacterie een kans krijgt de infectie te veroorzaken. Opportunistische bacteriën kunnen endogeen zijn, dat wil zeggen dat de bacterie tot de normale flora behoort, of exogeen, waarbij het micro-organisme van buiten komt. Opportunistische bacteriën staan in tegenstelling tot zogenaamde 'primaire pathogene' bacteriën, waarbij sprake is van besmetting met exogene

Tabel 1. Overzicht van typeringsmethoden voor *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans*.

Methode	Gebaseerd op	Gevoeligheid
<b>Klassieke typeringsmethoden</b>		
Serotypering	antigene structuur	laag
Biotypering	fysiologische kenmerken	laag
Antibiogramtypering	gevoeligheid voor antibiotica	matig
<b>Moleculair biologische typeringsmethoden</b>		
MLEE	elektroforetische migratie van enzymen	vrij hoog
REA	DNA	hoog
Ribotypering	DNA	hoog
AP-PCR	DNA	hoog
RFEL	DNA	zeer hoog

bacteriën die bij een gezonde gastheer in het algemeen automatisch ziekteverschijnselen veroorzaken. Een voorbeeld hiervan is de veroorzaker van kinkhoest, *Bordetella pertussis*. Bij deze specifieke pathogeen zijn alle isolaten van patiënten met kinkhoest genetisch identiek en behoren alle tot één en hetzelfde cluster; de populatiestructuur is dus homogeen.<sup>3-6</sup> Voor *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis* is er niet één bepaald genetisch type altijd geassocieerd met ziekte.<sup>7</sup> Dit is de basis voor de hypothese dat *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* een opportunistische rol spelen in parodontale infecties. De vraag blijft of deze bacteriën als exogene of als endogene micro-organismen gezien moeten worden.

### 4.2 Onderzoek naar de transmissie van bacteriën

Omdat er zo'n heterogeniteit bestaat in de natuurlijke populaties van *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans*, is het juist gemakkelijk verschillende isolaten te vervolgen. Immers, als twee bacteriën van hetzelfde type zijn, is het hoogst waarschijnlijk dat ze tot dezelfde kloon behoren, dat wil zeggen van elkaar afstammen. Zo hebben we ons afgevraagd met hoeveel typen van *P. gingivalis* of *A. actinomycetemcomitans* een patiënt met parodontitis gekoloniseerd kan zijn. Van *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis* is gebleken dat er per individu veelal slechts één type voorkomt.<sup>3,13-16</sup> Dit in tegenstelling tot bacteriën zoals *P. intermedia* en *Eikenella corrodens*, waarvan er vaak meerdere typen in één mond gevonden kunnen worden. Maar zowel sporadische bevindingen als statistische analyse van de resultaten geven aan dat ook voor *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* meerdere typen in de orale flora naast elkaar kunnen bestaan.

Vervolgens is onderzoek verricht naar de leeftijd waarop mensen gekoloniseerd kunnen worden met *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis*. Het beperkte aantal typen per persoon (meestal één) heeft het gemakkelijk gemaakt enige uitspraken ten aanzien van mogelijke overdracht van deze parodontale bacteriën te doen. Gebleken is dat ongeveer de helft van de echtgenoten van patiënten met parodontitis die met *P. gingivalis* zijn gekoloniseerd, ook *P. gingivalis* in de subgingivale plaque hebben.<sup>13,14</sup> De meerderheid van deze *P. gingivalis*-isolaten blijkt identiek te zijn aan die van hun partners, maar verschillend van onafhankelijke personen. Er zijn dus sterke aanwijzingen dat *P. gingivalis* op volwassen leeftijd van het ene individu op het andere kan worden overgedragen. Bij kinderen van echtparen die gekoloniseerd zijn met *P. ging-*



*ivalis*, is deze bacterie met kweektechnieken niet of nauwelijks aantoonbaar.<sup>15</sup> Voor *A. actinomycetemcomitans* bestaat een andere situatie: overdracht op volwassen leeftijd lijkt weinig voor te komen, terwijl transmissie van ouder op kind in diverse onderzoeken aangetoond is. Overdracht van bacteriën is een interessante bevinding, maar relevanter voor de klinische situatie is of dit vervolgens ook leidt tot parodontale afbraak. Op dit moment zijn onvoldoende publicaties met harde gegevens beschikbaar om hier een uitspraak over te doen.

## 5 Conclusies

*A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis* zijn geassocieerd met parodontale infecties. Nieuwe typeringsmethoden zoals DNA-fingerprinting maken diepgaand onderzoek naar de epidemiologie van deze bacteriën mogelijk. Zo is overdracht van *A. actinomycetemcomitans* en *P. gingivalis* binnen families aangetoond. Gebaseerd op de genetische diversiteit van de natuurlijke populaties van deze bacteriën kunnen *P. gingivalis* en *A. actinomycetemcomitans* geassocieerde parodontitis als opportunistische infecties beschouwd worden.

## Literatuur

- 1 Slots J, Listgarten M. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 85-93.
- 2 Steenbergen TJM van, Winkelhoff AJ van, Graaff J de. Black-pigmented oral anaerobic rods: classification and role in periodontal disease. In: Hamada S, Holt HC, McGhee JR, red. *Periodontal disease: Pathogens & host immune responses*. Tokio: Quintessence Publ. Co., 1991: 41-52.
- 3 Loos BG, Dyer DW, Genco RJ, Selander RK, Dickinson DP. Natural history and epidemiology. In: Shah HN, Mayrand D, Genco RJ, red. *Biology of the species Porphyromonas gingivalis*. Boca Raton: CRC Press Inc., 1993: 3-31.
- 4 Steenbergen TJM van, Winkelhoff AJ van, Graaff J de. Classification and typing methods of black-pigmented Gram-negative anaerobes.

- FEMS Immun Med Microbiol 1993; 6: 83-8.
- 5 Steenbergen TJM van, Bosch-Tijhof CJ, Winkelhoff AJ van, Gmür R, Graaff J de. Comparison of six typing methods for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2769-74.
  - 6 Selander RK, Musser JM. Population genetics of bacterial pathogenesis. In: Sokatch JR, Ornston LN, Iglewski BH, Clark VL, red. *The bacteria: a treatise on structure and function*. Vol XI. Molecular basis of bacterial pathogenesis. New York: Academic Press, 1990: 11-36.
  - 7 Loos BG, Dyer DW, Whittam TS, Selander RK. Genetic structure of populations of *Porphyromonas gingivalis* associated with periodontitis and other oral infections. *Infect Immun* 1993; 61: 204-12.
  - 8 Poulsen K, Theilade E, Lally ET, Demuth DR, Kilian M. Population structure of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a framework for studies of disease-associated properties. *Microbiology* 1994; 140: 2049-60.
  - 9 Loos BG, Mayrand D, Genco RJ, Dickenson DP. Genetic heterogeneity of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* by genomic DNA fingerprinting. *J Dent Res* 1990; 69: 1488-93.
  - 10 Steenbergen TJM van, Menard C, Tijhof CJ, Mouton C, Graaff J de. Comparison of three molecular typing methods in studies of transmission of *Porphyromonas gingivalis*. *J Med Microbiol* 1993; 39: 416-21.
  - 11 Loos BG, Dyer DW. Restriction fragment length polymorphism analysis of the fimbriin locus, fim A, of *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res* 1992; 71: 1173-81.
  - 12 Steenbergen TJM van, Colloms SD, Hermans PWM, Graaff J de, Plasterk RHA. Genomic DNA fingerprinting by restriction fragment end labeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5572-6.
  - 13 Steenbergen TJM van, Petit MDA, Scholte LHM, Velden U van der, Graaff J de. Transmission of *Porphyromonas gingivalis* between spouses. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 340-5.
  - 14 Saarela M, Troil-Linden B von, Torkko H, et al. Transmission of oral bacterial species between spouses. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 349-54.
  - 15 Petit MDA, Steenbergen TJM van, Scholte LHM, Velden U van der, Graaff J de. Epidemiology and transmission of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among children and their family members. A report of 4 surveys. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 641-50.
  - 16 DiRienzo JM, Slots J, Sixou M, Sol MA, Harmon R, McKay TL. Specific genetic variants of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* correlate with disease and health in a regional population of families with localized juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1994; 62: 3058-65.

## Summary

### TYPING AND TRANSMISSION OF PERIODONTAL BACTERIA

Key words: Periodontology – Oral microbiology

An overview is given of typing methods for bacteria that are associated with periodontitis. Special attention is paid to new molecular biological techniques, based on the characterization of protein and DNA. Bacteria that are associated with periodontitis have a population structure similar to that of opportunistic bacteria. Typing methods are used to study transmission of bacteria. *P. gingivalis* can be transmitted between spouses, but transmission from parent to child seems to be uncommon. *A. actinomycetemcomitans* transmission between adults does not occur frequently, while transmission from parent to child can occur in a low frequency.